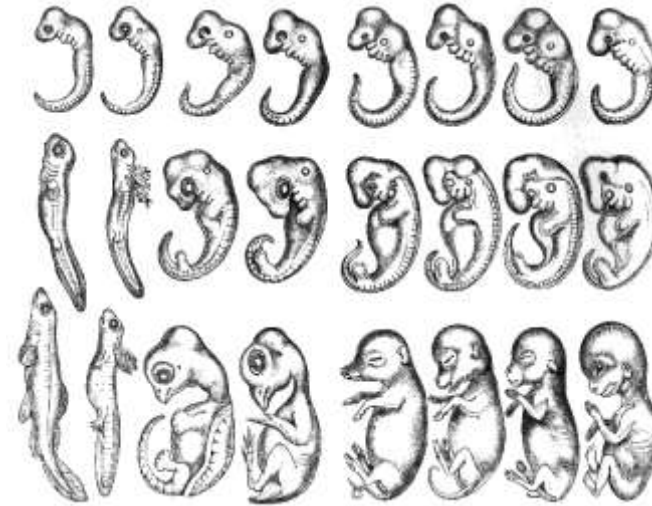




Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

Fachbereich biologie
Institut für pflanzenwissenschaften
und mikrobiologie



Entwicklungsbiologie
Sommersemester 2020

Medizin,
Umwelt,
EvoDevo

Entwicklungsbiologie + Medizin

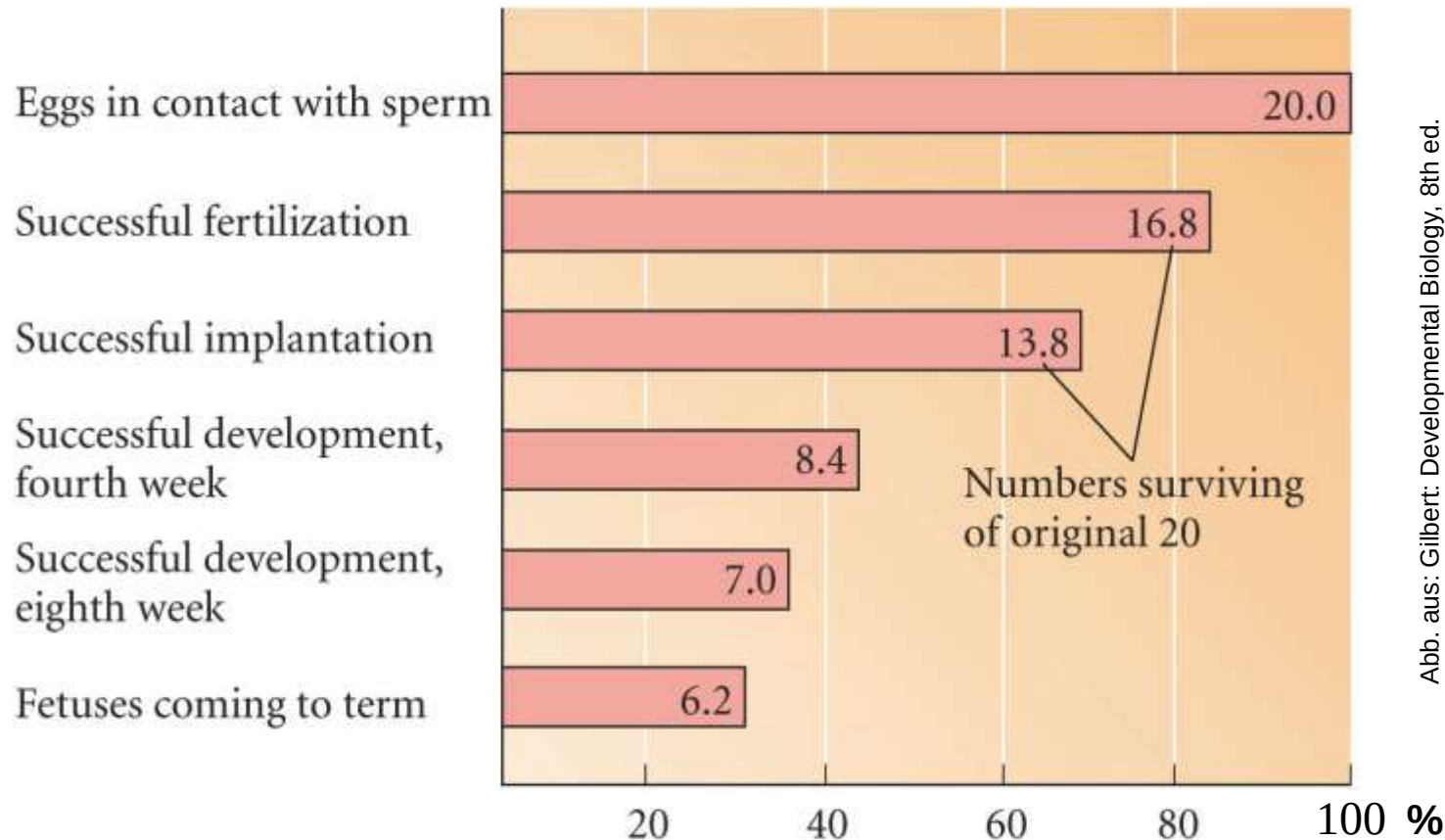
Beispiele:

- **Genetische Defekte** für Fehler in Entwicklung verantwortlich
- **Maternale Umgebung** beeinflusst Entwicklung
- **Teratogene** und **Umweltgifte** beeinflussen Entwicklung
- **Krebs** als "Fehlentwicklung"
- Therapeutisches Klonen, Stammzellen, Gentherapie etc...
- **Regeneration** traumatischer Verletzungen
- ...



Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

Das Wunder der Geburt

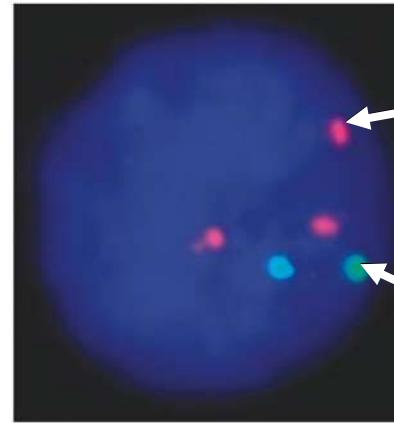


- Nur ca. **1/3 aller Eizellen**, die mit Spermien in Kontakt kommen, entwickeln sich bis zur Geburt
- ca. **5% der Lebendgeburten** mit **congenitalen** (=angeborenen) Defekten (genetisch, maternal oder umweltbedingt)

Genetische Defekte



- Genetische Defekte des Embryos häufigster Grund für Aborte
- Punktmutationen, Verlust von genetischen Material, Translokationen, **Aneuploidien** (Monosomien, Trisomien = Fehlverteilung von Chromosomen)



Chromosom 21

Chromosom 13

- Aneuploidie: **Trisomie 21** (Down-Syndrom)
=> diverse morphologische Defekte
- Grund: Missregulation von Genen, v.a. Transkriptionsfaktoren
- DSCR: *Down Syndrome Critical Region* (u.a. DSCR1= Calcineurin [Ca^{2+} -bindend])
=> Expression in Hirn, Muskel, Herz)
- Andere Aneuploidien lethal (Ausnahmen: Trisomien 13 +18)

Genetische Defekte



- Verlust der Funktionalität eines einzelnen Gens:
=> Punktmutationen, Deletionen, Frame shifts

- Betreffen häufig nicht nur ein Organ
bzw. Stoffwechselweg
=> **pleiotrope** Effekte

- Bsp: **Waardenburg Syndrom Typ 2**



- Taubheit, kleine Augen, vielfarbige Iris, weiße Locke
=> Mutation im *MITF*-Gen
(Transkriptionsfaktor)

TABLE 21.1 Some genes encoding human transcription factors and phenotypes resulting from their mutation

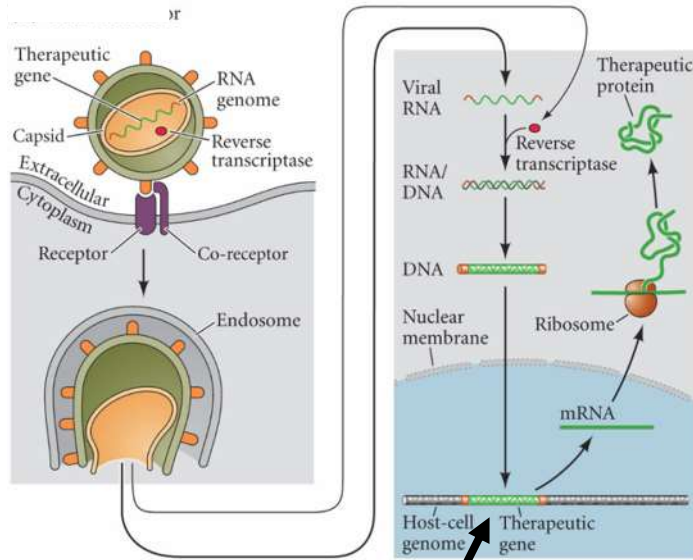
Gene	Mutation phenotype
Androgen receptor	Androgen insensitivity syndrome
<i>AZF1</i>	Azoospermia
<i>CBFA1</i>	Cleidocranial dysplasia
<i>CSX</i>	Heart defects
<i>EMX2</i>	Schizencephaly
Estrogen receptor	Growth regulation problems, sterility
<i>Forkhead-like 15</i>	Thyroid agenesis, cleft palate
<i>GLI3</i>	Grieg syndrome
<i>HOXA13</i>	Hand-foot-genital syndrome
<i>HOXD13</i>	Polysyndactyly
<i>LMX1B</i>	Nail-patella syndrome
<i>MITF</i>	Waardenburg syndrome type 2
<i>PAX2</i>	Renal-coloboma syndrome
<i>PAX3</i>	Waardenburg syndrome type 1
<i>PAX6</i>	Aniridia
<i>PTX2</i>	Reiger syndrome
<i>PITX3</i>	Congenital cataracts
<i>POU3F4</i>	Deafness and dystonia
<i>SOX9</i>	Campomelic dysplasia, male sex reversal
<i>SRY</i>	Male sex reversal
<i>TBX3</i>	Schinzel syndrome (ulna-mammary syndrome)
<i>TBX5</i>	Holt-Oram syndrome
<i>TCOF</i>	Treacher-Collins syndrome
<i>TWIST</i>	Seathre-Chatzen syndrome
<i>WT1</i>	Urogenital anomalies

Gentherapie

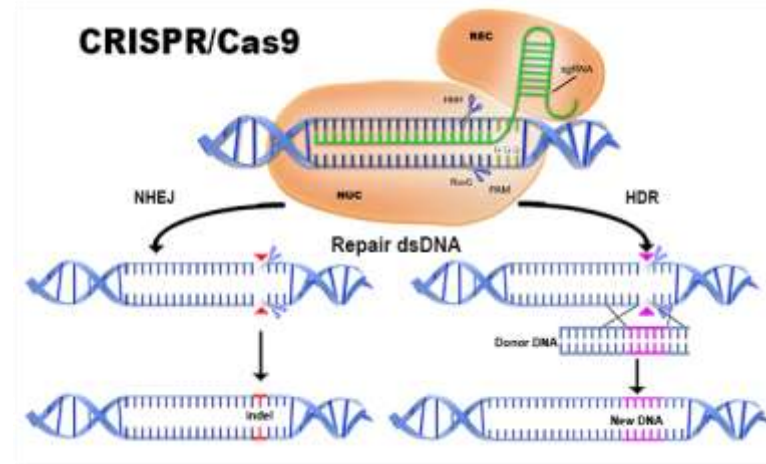
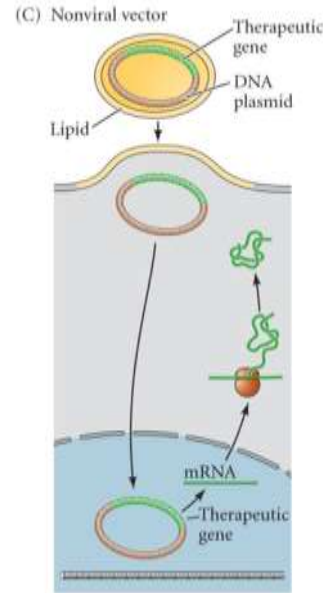


nicht-virale Vektoren

Retrovirus



integriert ins Genom



- **Idee:** Normale Version des defekten Gens wird in Organismus eingeschleust (via Retrovirus, Adenovirus oder nicht-virale Vektoren)
- Neu: Reparatur via **CRISPR/Cas-9**
- **Somatische** Therapie (Körperzellen werden repariert) vs. **Keimbahntherapie** ("Heilung" von Erbkrankheiten)

Teratogen: Contergan

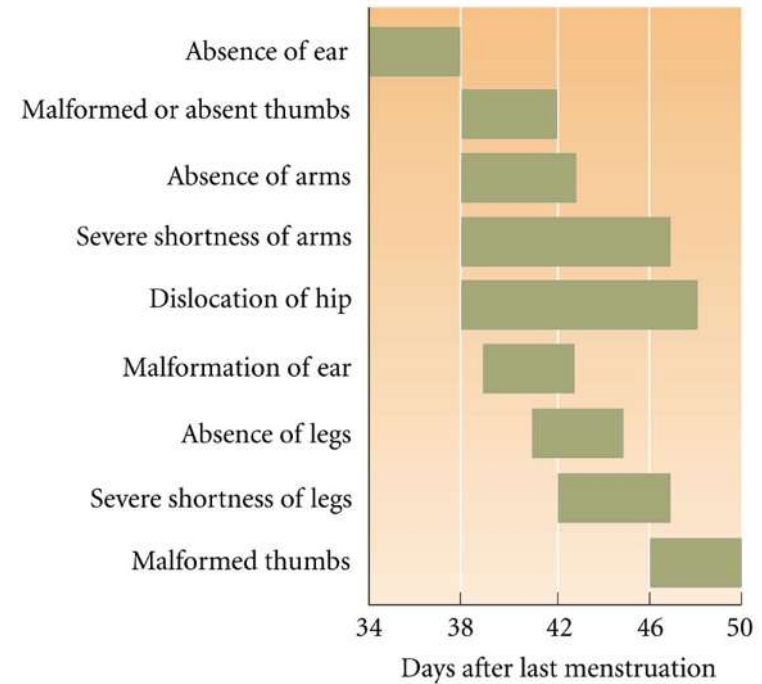
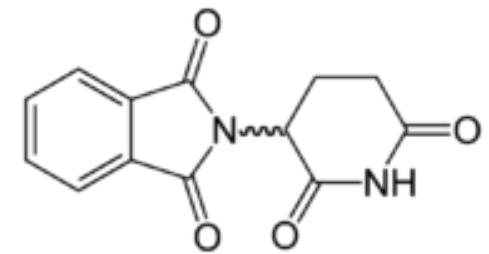


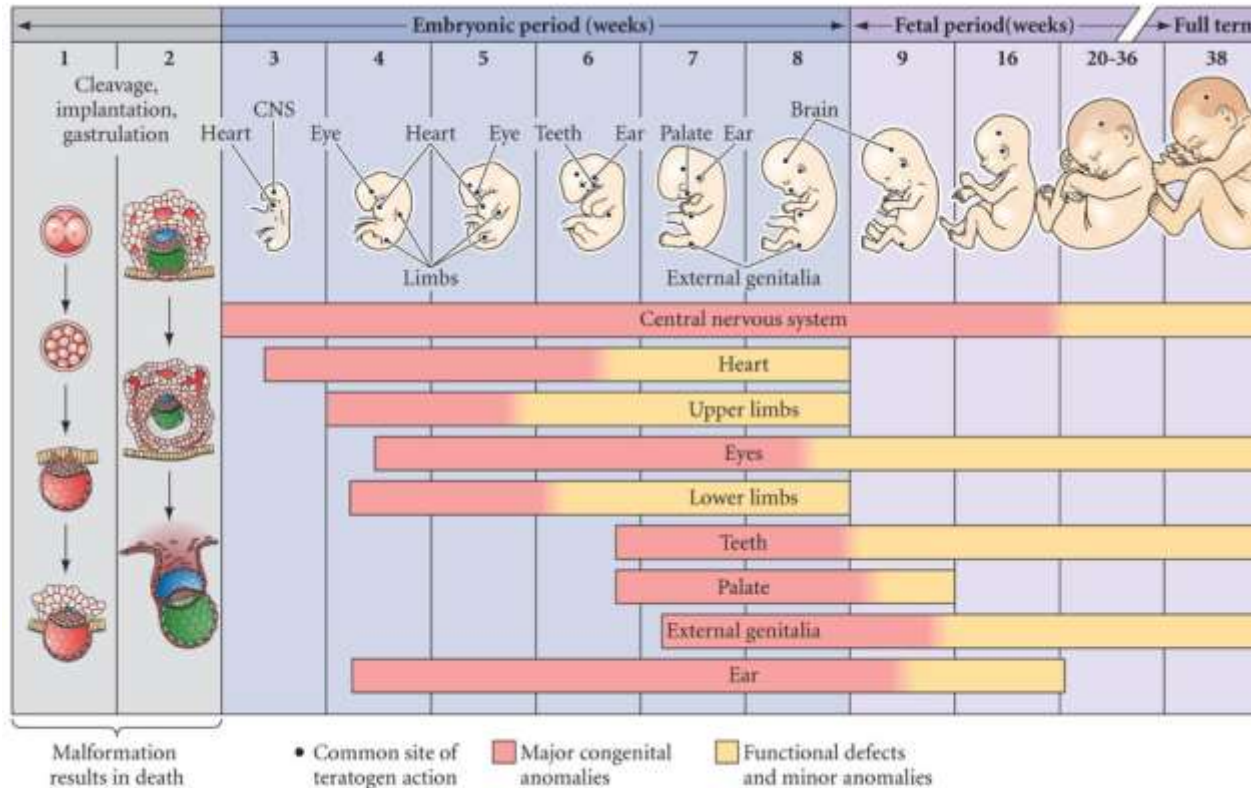
Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

- **1961:** Schlafmittel "Contergan" (Wirkstoff: "Thalidomid") => führt zu diversen **congenitalen** Defekten
- Art des Defekts vom Zeitpunkt der Einnahme
- Keine Defekte bei Mäusen + Ratten
- Thalidomin = **Teratogen** ("Monstermacher")



Thalidomid

Teratogene



- Teratogene verhindern korrekte Entwicklung ("reproduktionstoxisch", "fruchtschädigend")
- Art des Defekts korreliert mit dem **Zeitpunkt der Exposition** => Organbildung
- < 3 Wo => Abort, bis zur 8. Wo diverse Organe betroffen

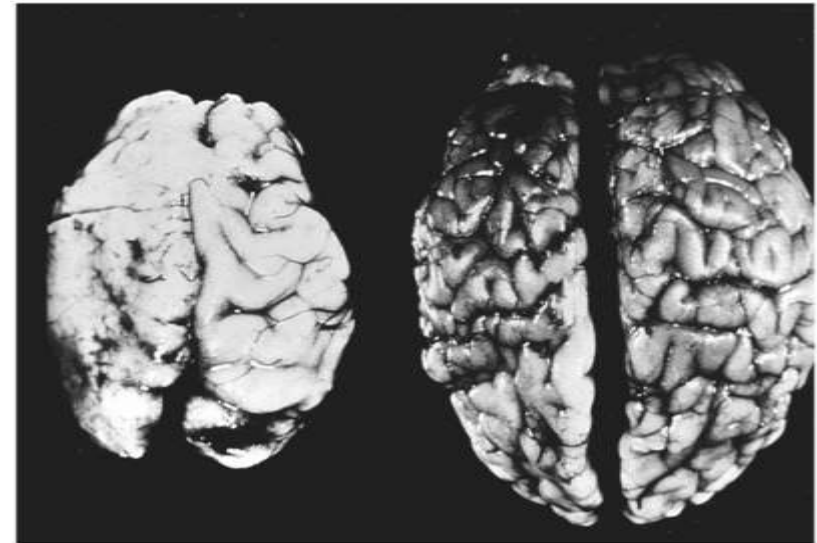
- **1962:** Pestizid DDT führt bei diversen Spezies zu Entwicklungsdefekten (z.B. Absterben von Vogeleiern, Verhinderung der Reproduktion ...)
- **1964:** Röteln-Epidemie in USA: 20.000 blinde / taube Kinder

Teratogene



DRUGS AND CHEMICALS	IONIZING RADIATION (X-RAYS)
Alcohol	HYPERTHERMIA (FEVER)
Aminoglycosides (Gentamycin)	INFECTIOUS MICROORGANISMS
Aminopterin	Coxsackie virus
Antithyroid agents (PTU)	Cytomegalovirus
Bromine	Herpes simplex
Cortisone	Parvovirus
Diethylstilbesterol (DES)	Rubella (German measles)
Diphenylhydantoin	<i>Toxoplasma gondii</i> (toxoplasmosis)
Heroin	<i>Treponema pallidum</i> (syphilis)
Lead	METABOLIC CONDITIONS IN THE MOTHER
Methylmercury	Autoimmune disease
Penicillamine	(including Rh incompatibility)
Retinoic acid (Isotretinoin, Accutane)	Diabetes
Streptomycin	Dietary deficiencies, malnutrition
Tetracycline	Phenylketonuria
Thalidomide	
Trimethadione	
Valproic acid	
Warfarin	

- Diverse Teratogene bekannt (s. Tabelle):
chemischen Substanzen, ionisierende Strahlungen, Mikroorganismen (inkl. Viren), Fieber ...



- **Alkohol** potentes Teratogen => **FAS** (Fötales Alkoholsyndrom)
- Kleiner Kopf, kleines Gehirn ...
- 0,5 bis 3 von 1000 Geburten (=> 3.häufigste geistige Behinderung)
- 40% der Frauen, die in der Schwangerschaft stark trinken, und 11%, die mäßig trinken, bekommen FAS-Kind

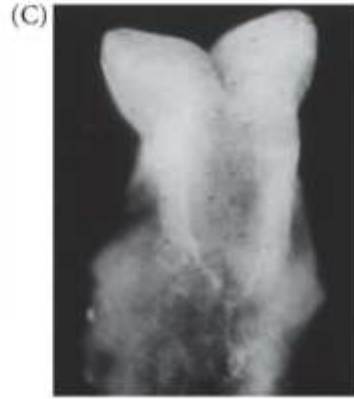
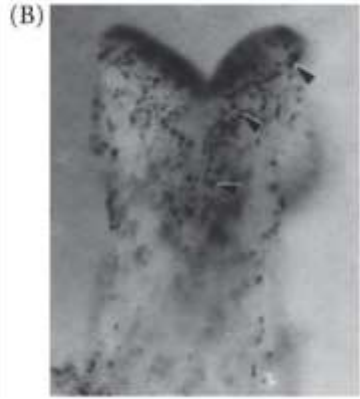
FAS: Mechanismus



Kontrolle

+Ethanol

+Ethanol
+SOD*



■ Wie wirkt Ethanol auf das ZNS?

- vorzeitige Differenzierung von Geweben
- Bildung von Superoxid (*links*)
- unterbricht den shh-Signalweg
- stört Zell-Adhäsion (L1-Protein) (*rechts*)

=> **Neurodegeneration**

*Superoxiddismutase

Verlust der Zelladhäsion

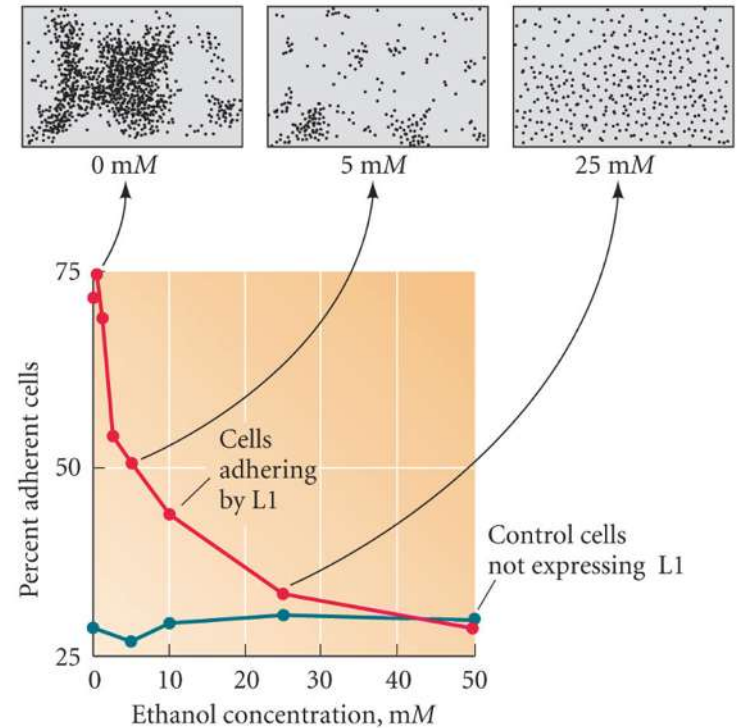


Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

Endokrine Disruptoren



- imitieren **Hormon**wirkung oder unterbrechen Hormonsynthese bzw. Hormonwirkungskette
- z.B. **Umwelt-Östrogene**
= synthetische Verbindungen mit östrogenartiger Wirkung (Östrogene ist ♀ Geschlechtshormon, aber auch bei Normalentwicklung beider Geschlechter wichtig)
- **DDT** zeigt diverse Umwelteffekte, wird mit Brustkrebs und verminderter Spermienqualität in Verbindung gebracht
- **DES** (Diethylstilbestrol): evt. Brustkrebs bei Töchtern, Unfruchtbarkeit bei Söhnen
- **PCB** (polychlorierte Biphenole): Brustkrebs (?), Geschlechtsumwandlung bei Tieren (?)

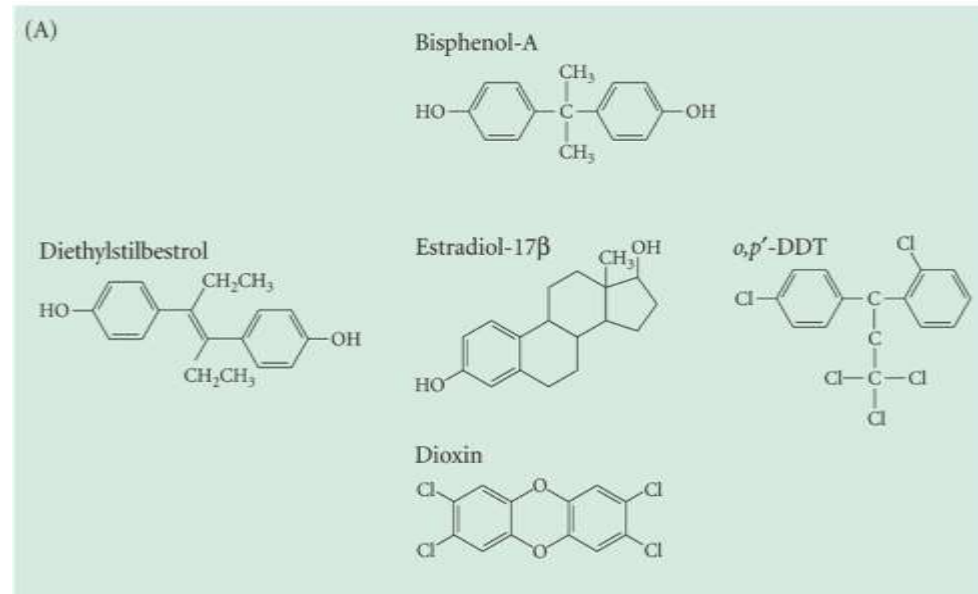
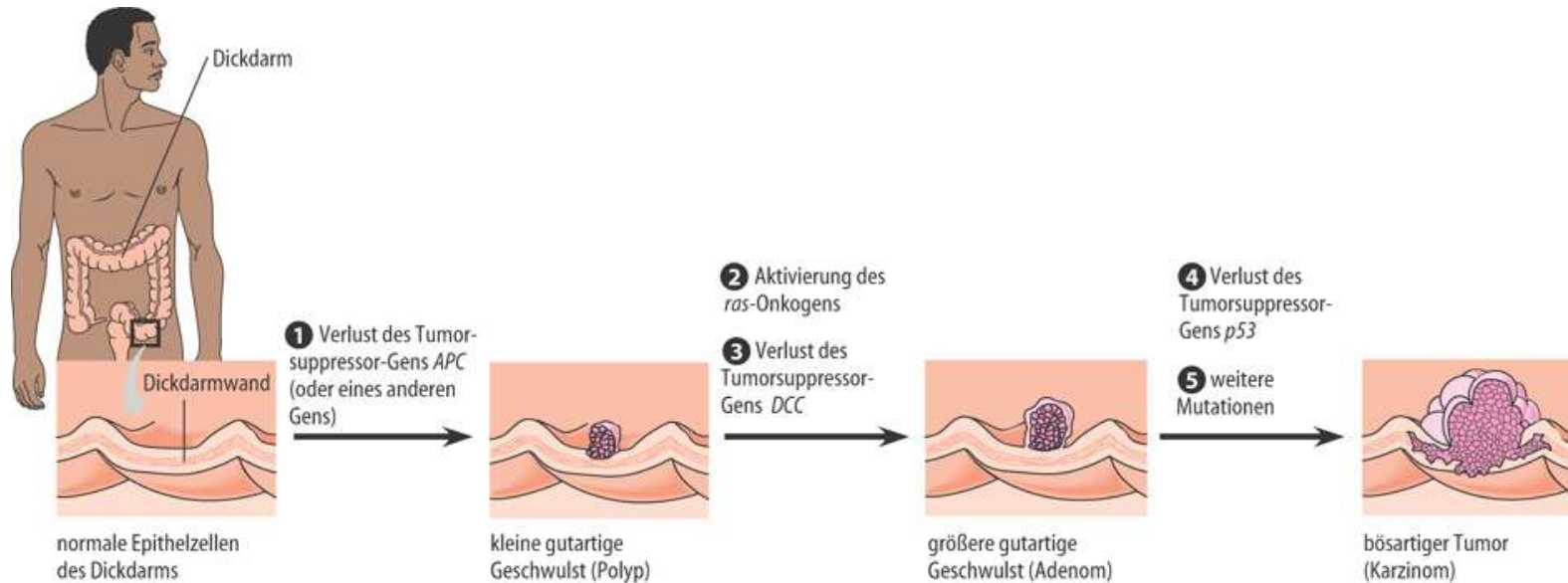


Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

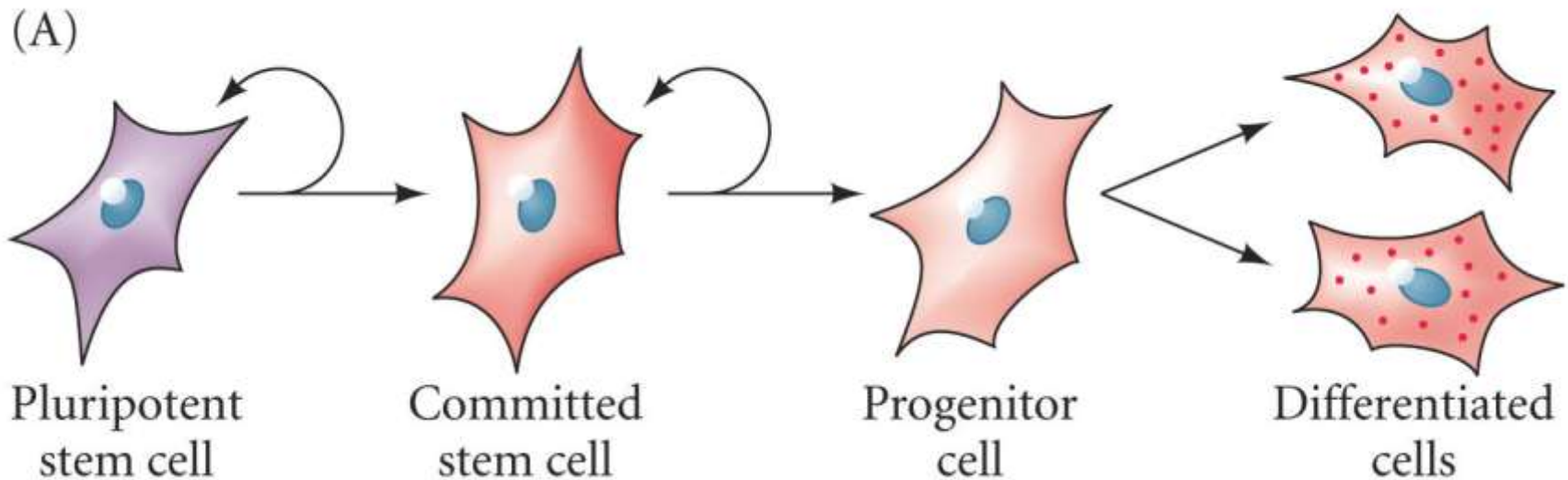
Ursachen von Krebs



© Campbell/Reece, Biologie, 6. Aufl., 2004

- **Genetische Hypothese:** Mehrere Gene müssen mutieren, damit Krebs auftritt (Oncogene – Tumorsuppressorgene); aber: viele Krebszellen mit normalem Genom!
- Krebszellen zeigen abnormale **Entwicklung**:
 - Teratocarcinoma => entstammen Gameten (normal wenn in Blastocyte)
 - Fehler in Zell-Zell-Kommunikation (Krebs nur in richtiger Umgebung)
 - Metastasen: Zellwanderung wie bei normaler Entwicklung
 - Stammzellhypothese: Krebs entsteht aus fehlgeleiteten Stammzellen

Das Stammzellkonzept

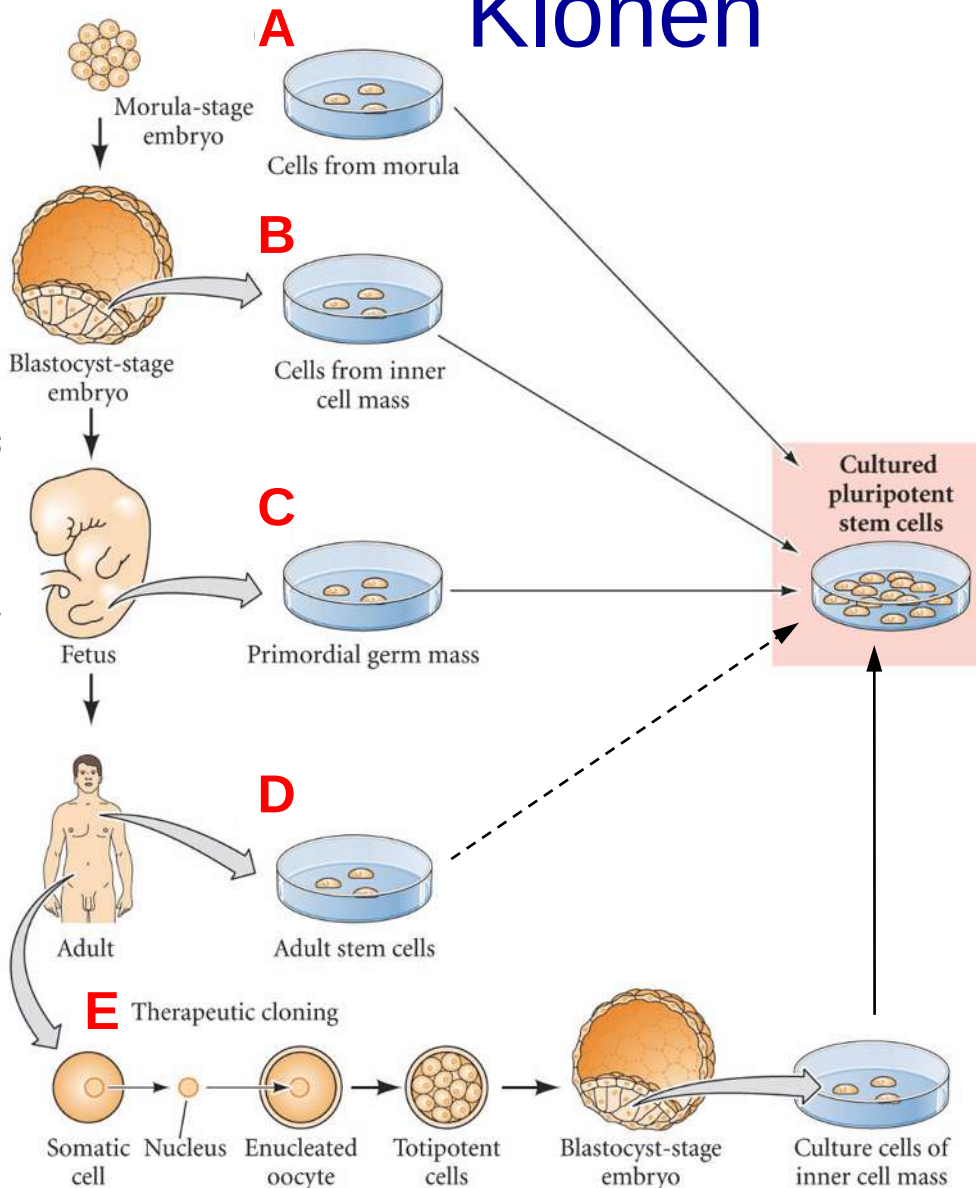


- **Stammzellen** können in mehr als einen Zelltyp differenzieren
- bis zu 8-Zell-Stadium sind Säugerzellen **totipotent** (zu allem fähig) => ganzer Organismus kann entstehen
- **Stammzellen** sind **pluripotent** (zu vielem fähig) => Organe können entstehen, aber kein ganzer Organismus
- werden "committed" und differenzieren sich dann zu bestimmten Zelltypen

Stammzellen + Therapeutisches Klonen

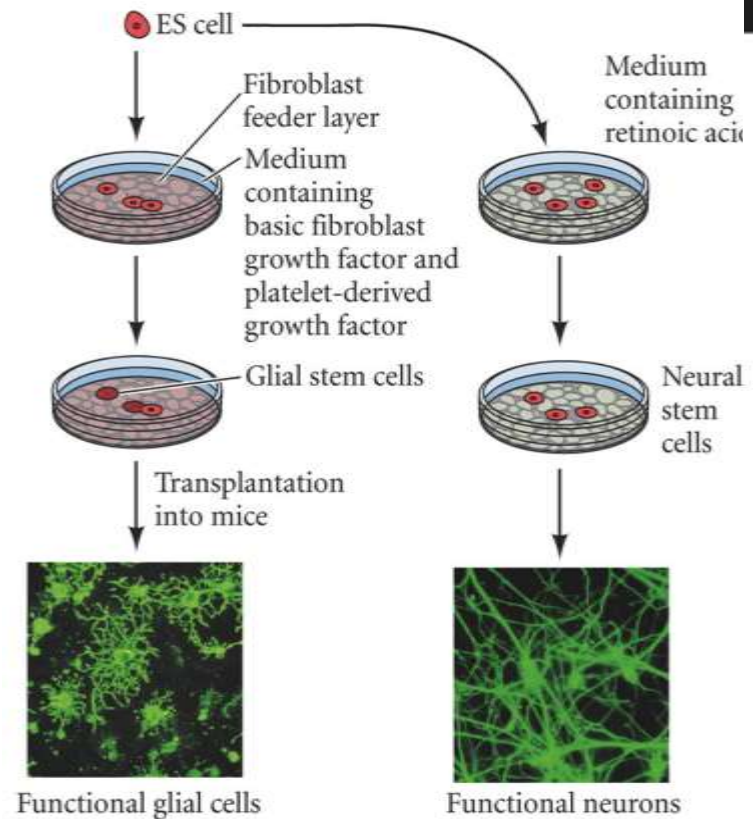
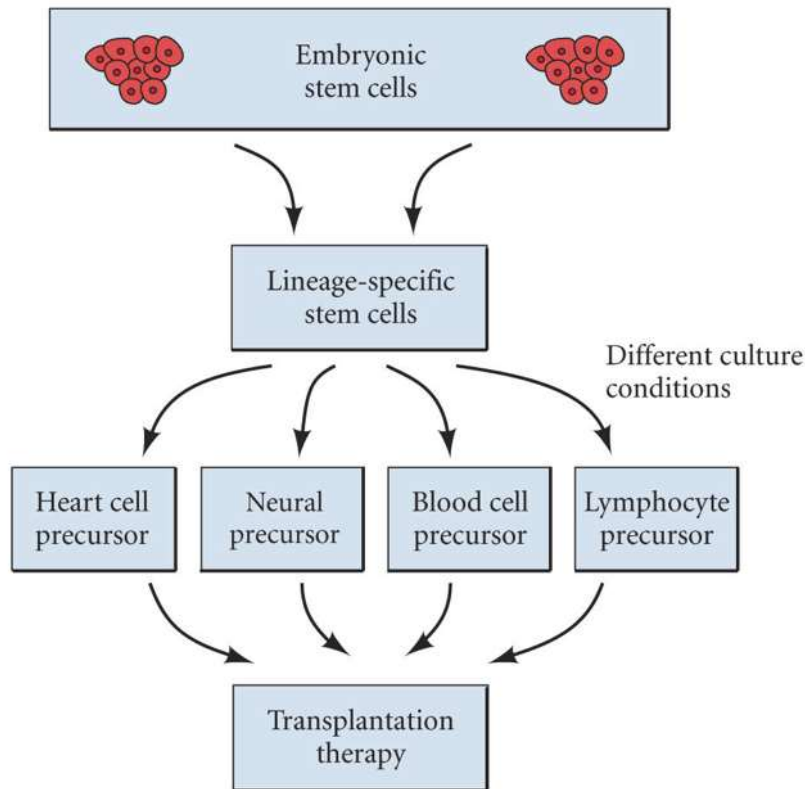


Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.



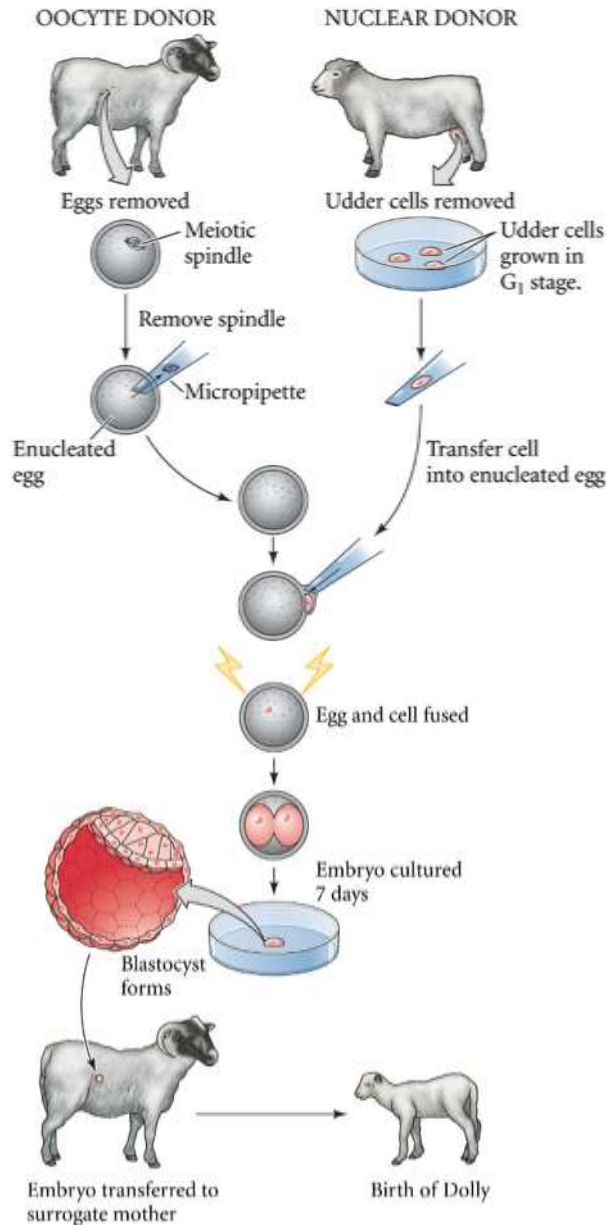
- **A + B** = pluripotente embryonale Stammzellen
- **C** = pluripotente fötale Stammzellen
- **D** = pluripotente adulte Stammzellen
- **E** = Therapeutisches Klonen
- **A, B, C** und **E** funktionieren *in vivo*, **D** experimentell

Stammzellentherapie



- Embryonale Stammzellen können – abhängig von den Kulturbedingungen - in verschiedene Gewebe differenzieren
- Idee: Ersetzen von defekten Geweben durch "frische", die aus ES-Zellen gewonnen werden
- Problem: Histokompatibilität! => Gewebe wird als fremd erkannt und abgestoßen
- Lösung: Therapeutisches Klonen

Reproduktives Klonen

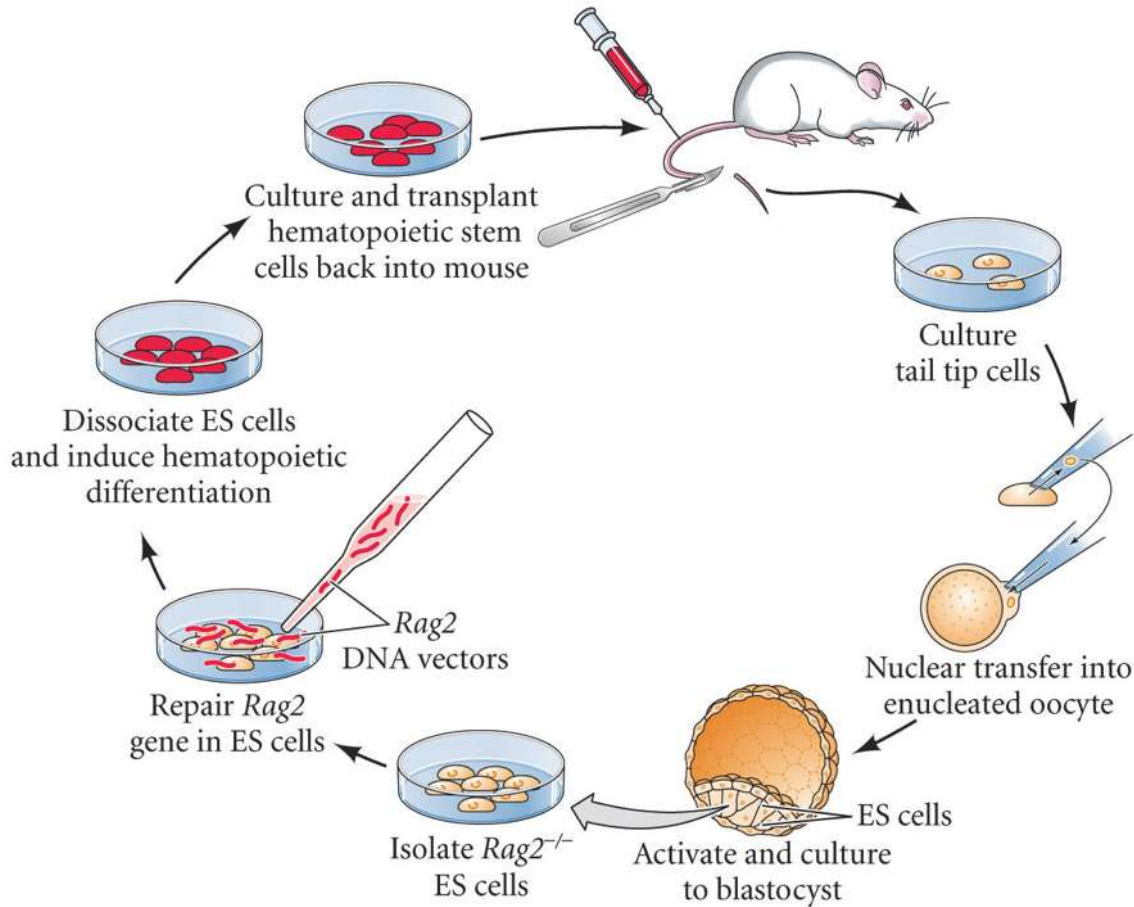


Mutter

Dolly

- Transfer von **somatischen** Zellkernen in entkernte **Eizellen** => Entwicklung zu adultem Organismus (trägt die Eigenschaften des ZK-Donors)
- Klonen von Amphibien ~ 1970er
- Klonen von Säuger seit 1997 ("Dolly"), später andere Tiere (Hund, Katze, Maus ...)
- aber: geringe Erfolgsrate, geklonte Tiere zeigen diverse Abnormalitäten

Therapeutisches Klonen



- Entnahme von **somatischen** Zellen aus erkranktem Organismus
- Transfer des **Zellkerns** in entkernte **Fremdoozyten**
- Entnahme **embryonaler Stammzellen**
- **Reparatur** (z.B. Ersatz) des defekten Gens
- **Differenzierung** der Stammzellen in Zielgewebe
- **Rücktransfer** in den Organismus

Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

Umwelt + Entwicklung

- Lange Zeit nahm man an, dass die Umwelt kaum **Einfluss** hat => **Gene** bestimmen Entwicklung?
- Heute: In fast allen Organismen spielen Umwelteinflüsse eine wesentliche Rolle
- => Entwicklung kann auf (sich ändernde) Umweltbedingungen reagieren. Beispiele:
 - **Phänotypische Plastizität**
 - **Polyphenismus**
 - **Symbiosen**
 - **Lernen ...**



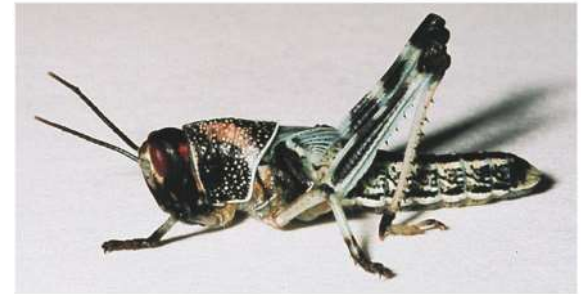
Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

Phänotypische Plastizität



- = verschiedene **Phänotypen** unter verschiedenen Umweltbedingungen
- Genom ist **permissiv** (gibt nur "Reaktionsnorm" vor)
- Bsp. Muskelwachstum bei Training

Schistocerca gregaria

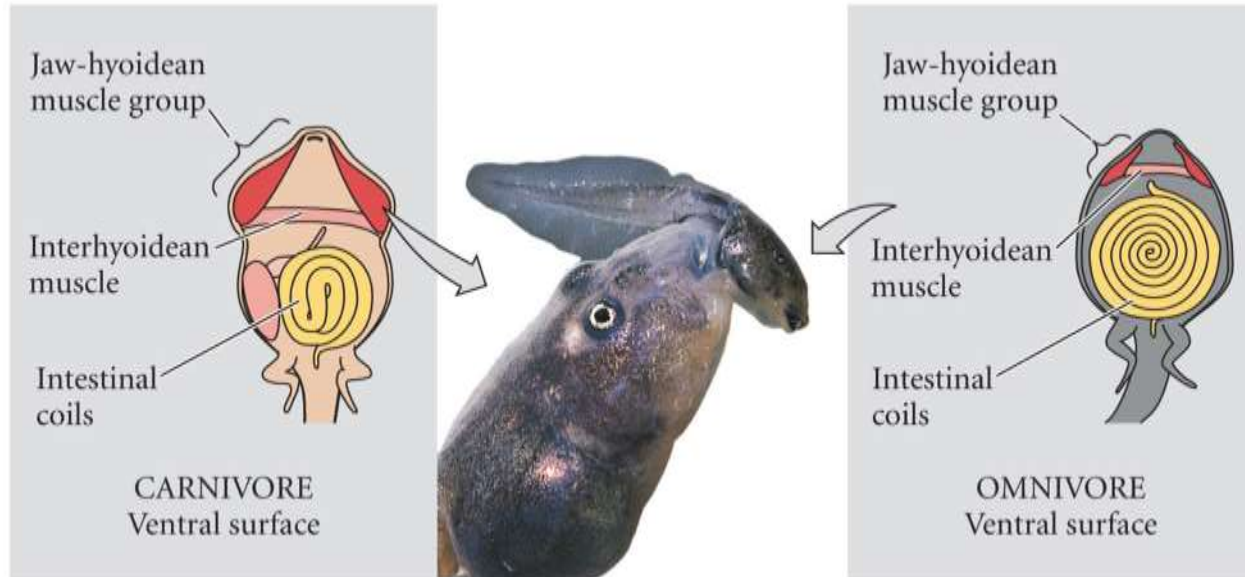


oben (B): stationär
unten (C): migratorisch

- **Polyphenismus** = diskrete Phänotypen ("entweder/oder") => **alternative Entwicklung!**

Bsp.: Stationäre und migratorische Formen von Heuschrecken (s.o. *Schistocerca gregaria*); früher als verschiedene Spezies betrachtet; Morph abhängig von der **Populationsdichte** (wird in Nympe determiniert)

Polyphenismus – Alternative Überlebensstrategien



- Spatenkröte *Scaphiopus couchii* (Arizona)
- Nach Frühjahrregen wird Starre (**Hibernation**) aufgehoben
- Laichen in Pfützen ab, Larven müssen sich rasch entwickeln
- Normalerweise Kaulquappen **omnivor** (Algen + Insektenlarven)
- Wenn Pfütze beginnt auszutrocknen, entwickeln einige Kaulquappen **carnivoren** Phänotyp => fressen andere Kaulquappen => schnellere Metamorphose! => werden zu kleineren Fröschen
- Auslösender Faktor: **Wasservolumen** (hormonell gesteuert)

Temperatur-abhängige Geschlechtsdetermination

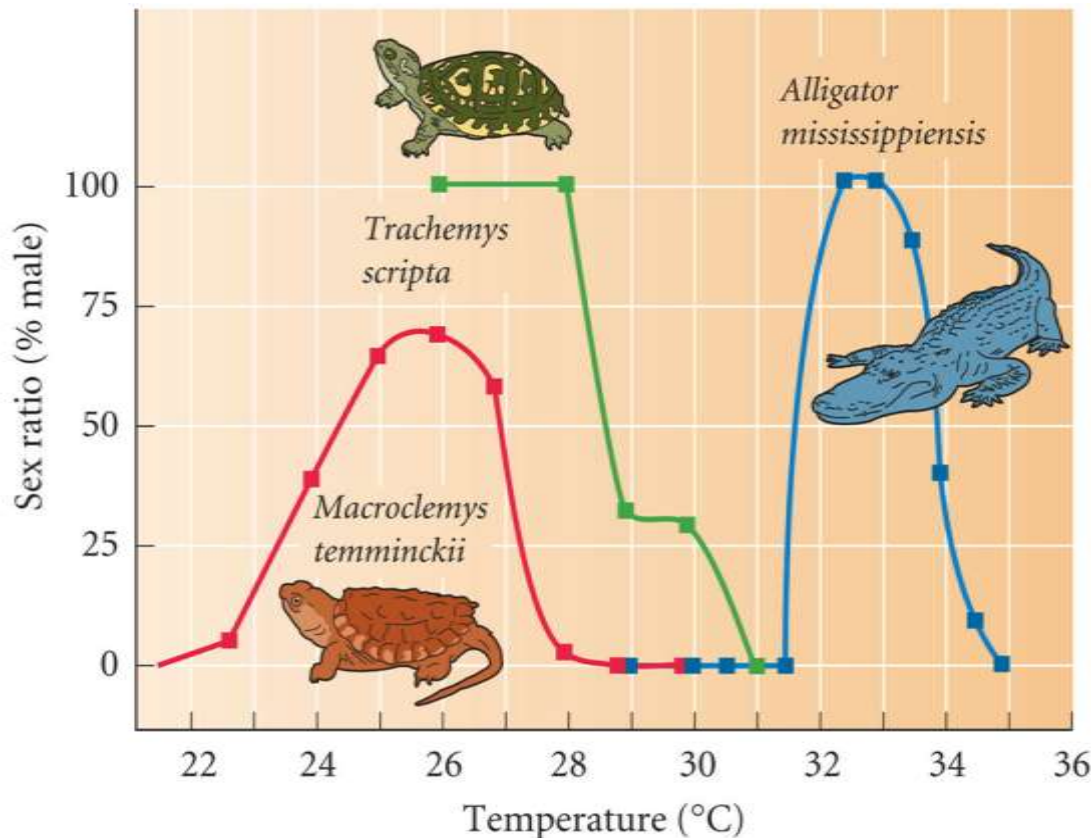
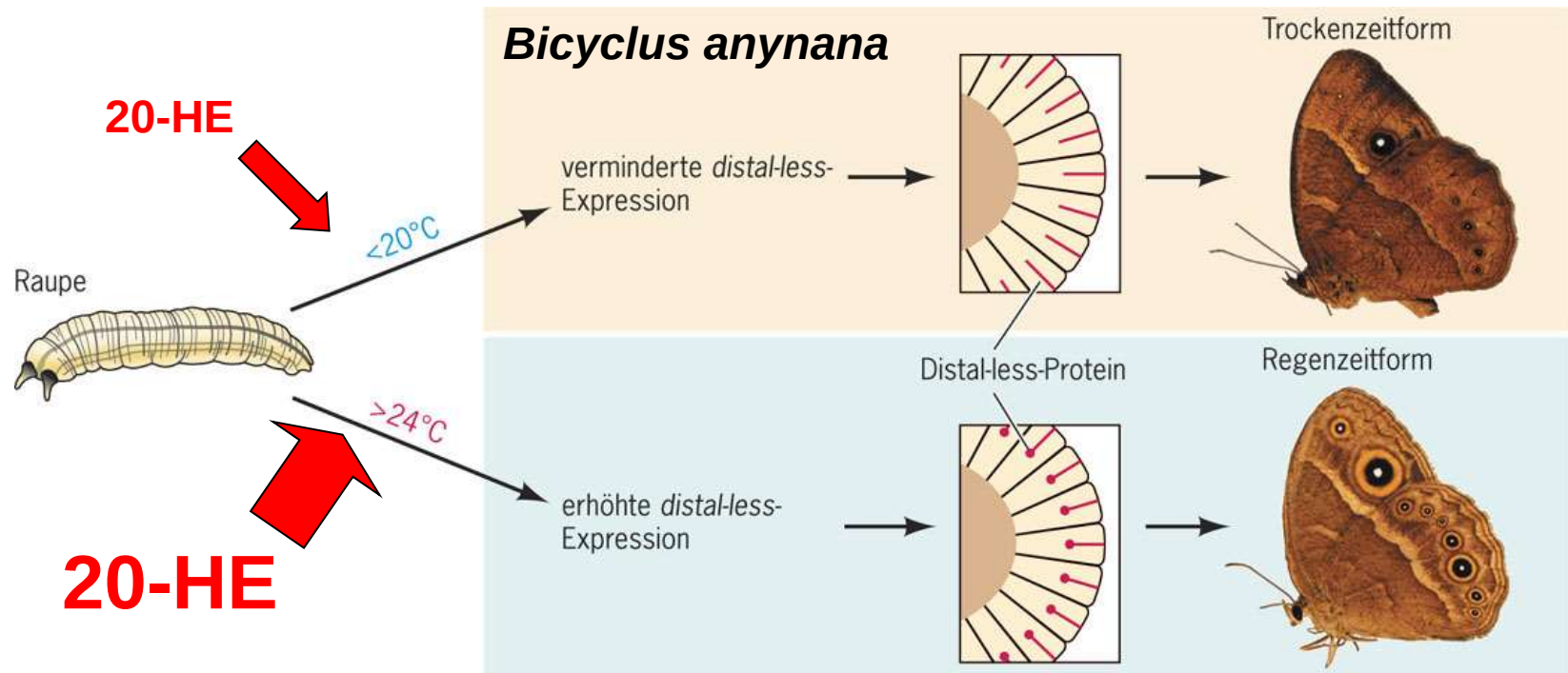


Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

- Geschlechtsdetermination nach der Befruchtung im Embryo!
- typisch für viele Fische und Reptilien
- Reptilien: Steuerung durch Zellproliferation? Hormonell (Östrogen)?

Jahreszeitlich bedingter Polyphenismus



Aus Purves/Sadava/Orians/Heller, *Biologie*, 7. Aufl., © 2006 Elsevier GmbH

- **20-Hydroxyecdysone (20-HE)** kontrolliert die Expression von *distal-less* in Imaginalscheibe
- **Distal-less** kontrolliert Pigmentierung

Ernährungsabhängiger Polyphenismus



Arbeiterin



Königin

Pheidologeton

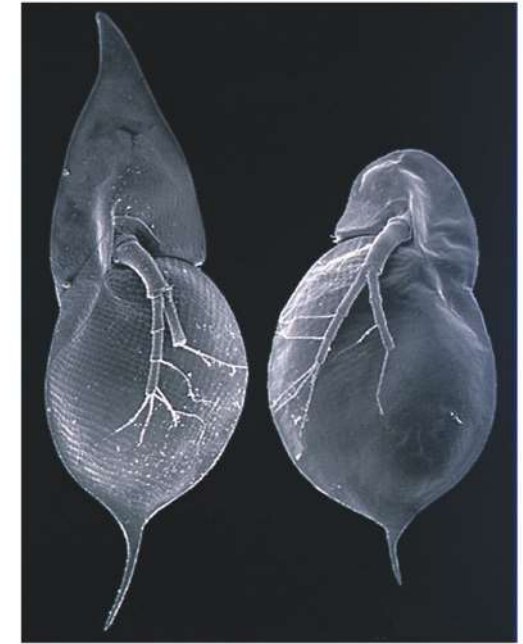
Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

- Polyphenismus abhängig von Ernährung, typisch bei **Hymenopteren**
- Gelee Royal hält Aktivität der *Corpora allata* => mehr **Juvenilhormon**
- Unterschiedliches Wachstum und Differenzierung der Imaginalscheiben
=> wird zur Königin (via DNA-Methylierung => Epigenetik)

Räuber-induzierter Polyphenismus



- Tiere können als Reaktion auf **Fressfeind**druck Morphologie ändern
- Reagieren auf vom Räuber abgegebene Moleküle ("**Kairomone**")
- Bsp. *Daphnia cucutalla*: Räuber ist Fliegenlarve *Chaeoborus*
=> adulte Daphnien bilden "Helm" aus und können schwerer gefressen werden
=> Phänotyp wird an Embryos (parthenogenetisch) weitergegeben



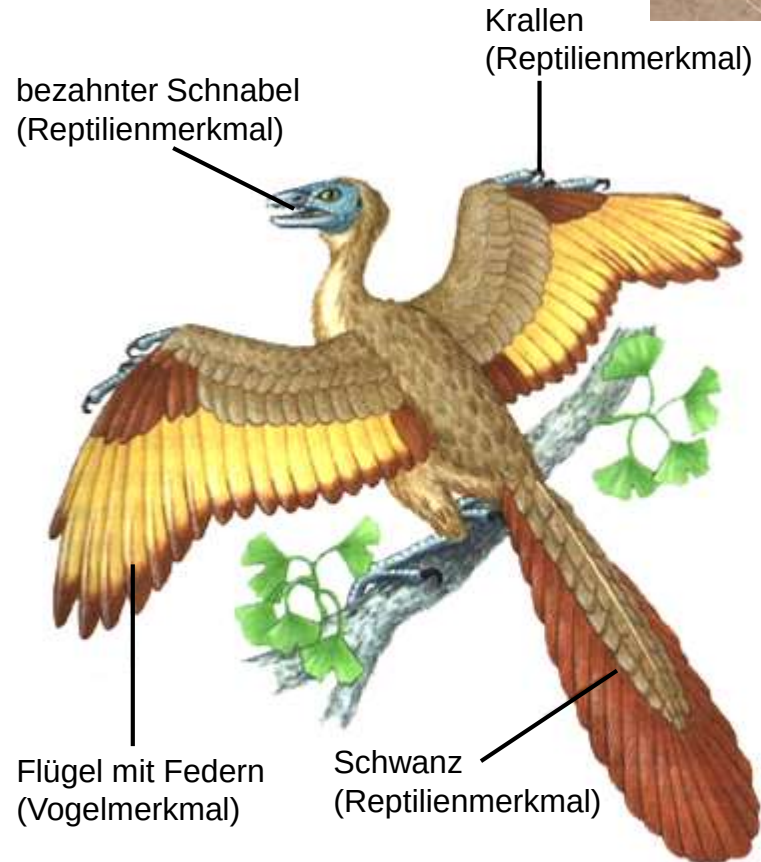
↑
räuber-induziert

↑
normal

Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.

Entwicklungsbiologie + Evolution (EvoDevo)

- **"EvoDevo"** = "Evolutionary Developmental Biology"
- **Evolution** wird von vererblichen **Änderungen** der Entwicklung getrieben
- Erklärung für **Ähnlichkeiten** und **Unterschieden** im Tierreich
- Erklärung für **Makroevolution!**



- "Der erste Vogel schlüpfte aus einem Reptilienei"

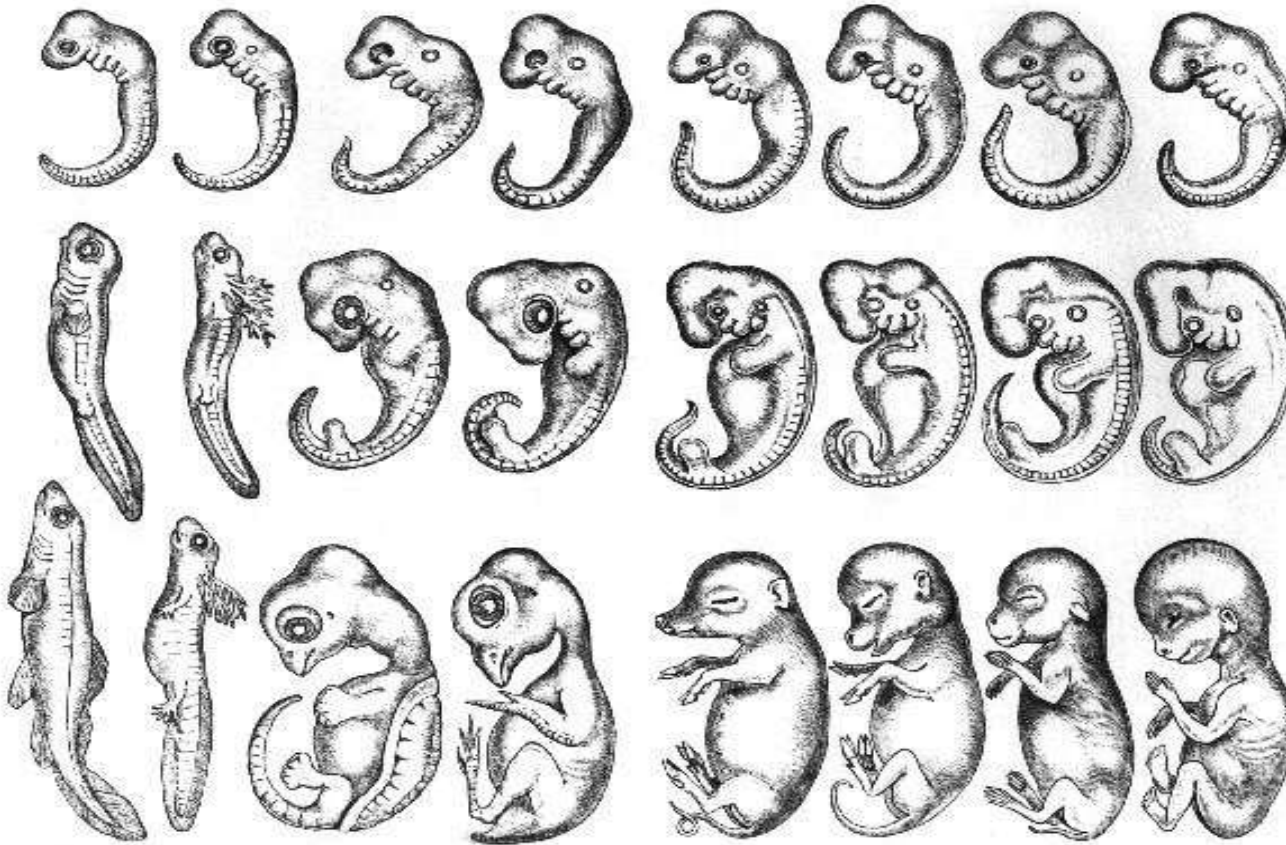
Morphologische Unterschiede in Metazoa



Einheit in der Vielfalt



Karl Ernst von Baer



Fisch Salamander Schildkröte Huhn Schwein Kalb Kaninchen Mensch

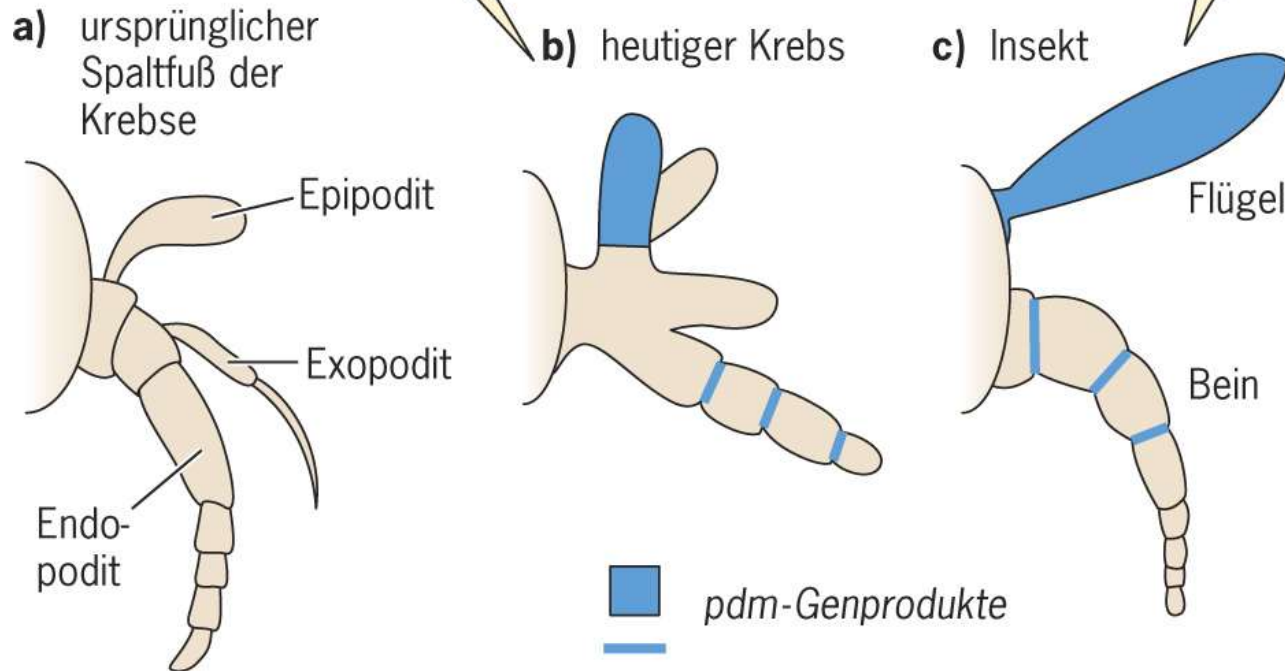
- **von Baer:** Wirbeltierembryonen ähneln sich während der frühen Entwicklung
- **Haeckel:** "Biogenetisches Grundgesetz "

Homologisierung



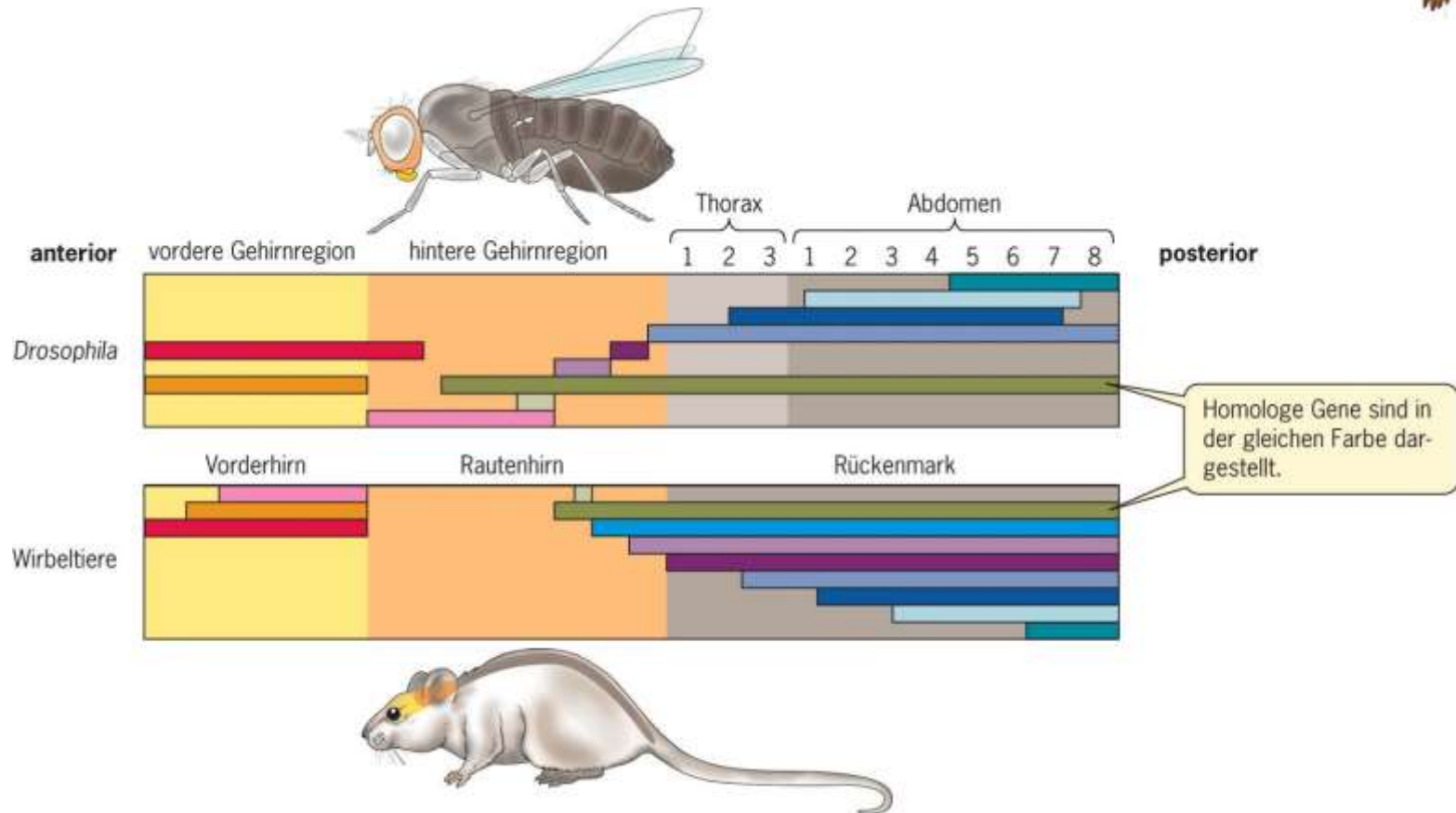
Die Entwicklung der Extremitäten von Krebsen wird durch das *pdm*-Gen gesteuert.

Die Entwicklung des Insektenflügels wird durch die Expression des gleichen Gens gesteuert.



- Expression von *pdm* => **Flügel** der Insekten mit **Epipodit** (Kiemen) von Crustaceenbein **homolog**
- Insektenflügel stammen von Kiemen ab! (Bestätigung der Pancrustacea-Hypothese)
- Vergleich der Genexpression erlaubt Homologisierung!

Einheit in der Vielfalt



Aus Purves/Sadava/Orians/Heller, Biologie, 7. Aufl., © 2006 Elsevier GmbH.

- Expression der Hox-Gene entlang der anterior-posterior Achse
- Homologe Gene werden +/- in der gleichen Region expirmiert
- => Homologie der A/P-Achse (und der Segmentierung?)

Konservierte Gene



TABLE 23.1 Developmental regulatory genes conserved between protostomes and deuterostomes

Gene	Function	Distribution
<i>achaete-scute</i> group	Cell fate specification	Cnidarians, <i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>Bcl2/Drob-1/ced9</i>	Programmed cell death	<i>Drosophila</i> , nematodes, vertebrates
<i>Caudal</i>	Posterior differentiation	<i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>delta/Xdelta-1</i>	Primary neurogenesis	<i>Drosophila</i> , <i>Xenopus</i>
<i>Distal-less/DLX</i>	Appendage formation (proximal-distal axis)	Numerous phyla of protostomes and deuterostomes
<i>Dorsal/NFkB</i>	Immune response	<i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>forkhead/Fox</i>	Terminal differentiation	<i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>Fringe/radical fringe</i>	Formation of limb margin (apical ectodermal ridge in vertebrates)	<i>Drosophila</i> , chick
<i>Hac-1/Apaf/ced 4</i>	Programmed cell death	<i>Drosophila</i> , nematodes, vertebrates
Hox complex	Anterior-posterior patterning	Widespread among metazoans
<i>lin-12/Notch</i>	Cell fate specification	<i>C. elegans</i> , <i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>Otx-1, Otx-2/Otd, Emx-1, Emx-2/ems</i>	Anterior patterning, cephalization	<i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>Pax6/eyeless; Eyes absent/eya</i>	Anterior CNS/eye regulation	<i>Drosophila</i> , vertebrates
Polycomb group	Controls Hox expression/ cell differentiation	<i>Drosophila</i> , vertebrates
Netrins, Split proteins, and their receptors	Axon guidance	<i>Drosophila</i> , vertebrates
RAS	Signal transduction	<i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>sine oculis/Six3</i>	Anterior CNS/eye pattern formation	<i>Drosophila</i> , vertebrates
<i>sog/chordin, dpp/BMP4</i>	Dorsal-ventral patterning, neurogenesis	<i>Drosophila</i> , <i>Xenopus</i>
<i>tinman/Nkx 2-5</i>	Heart/blood vascular system	<i>Drosophila</i> , mouse
<i>vnd, msh</i>	Neural tube patterning	<i>Drosophila</i> , vertebrates

Source: After Erwin 1999.

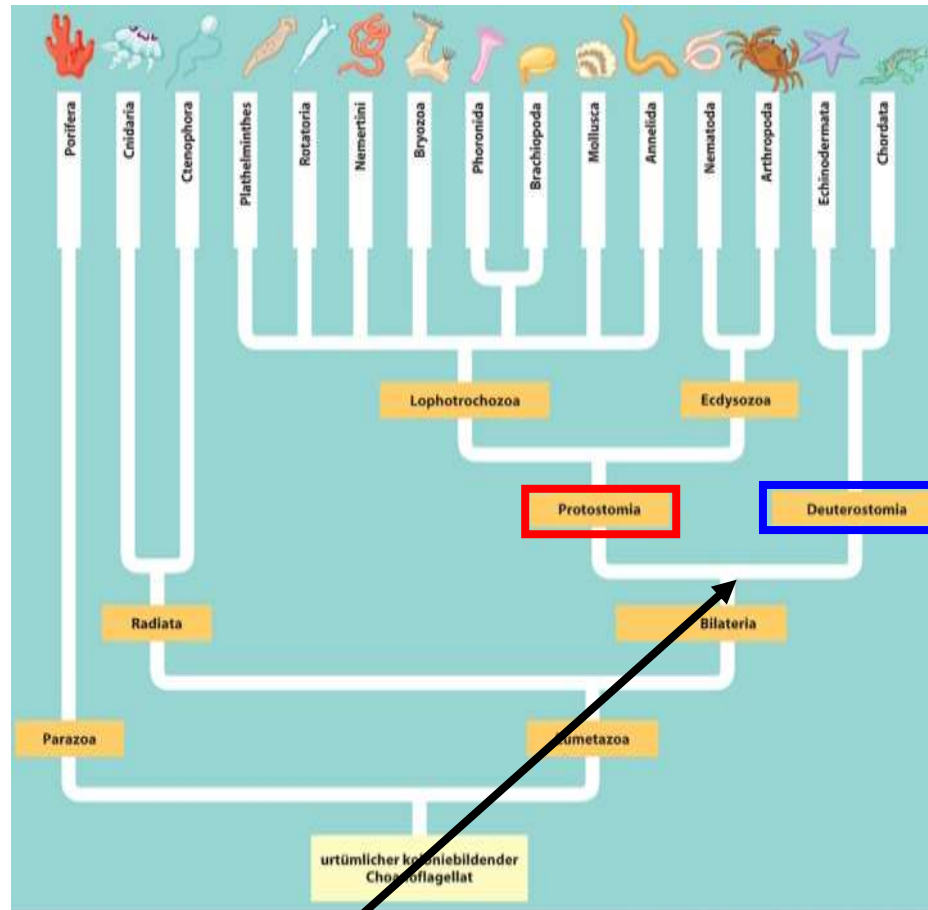
- **Homologe Gene** haben in verschiedenen Phyla häufig gleiche **Funktion** in der **Entwicklung** des Organismus
- => gemeinsame Abstammung

Protostomia - Deuterostomia



Protostomia:

1. Urmund wird zum endgültigen Mund, After entsteht sekundär
2. ZNS ventral
3. Herz dorsal



Deuterostomia:

1. Urmund wird zum After, Mund bricht sekundär durch
2. ZNS dorsal
3. Herz ventral

Zu den Deuterostomia gehört auch der im Kurs behandelte Seeigel

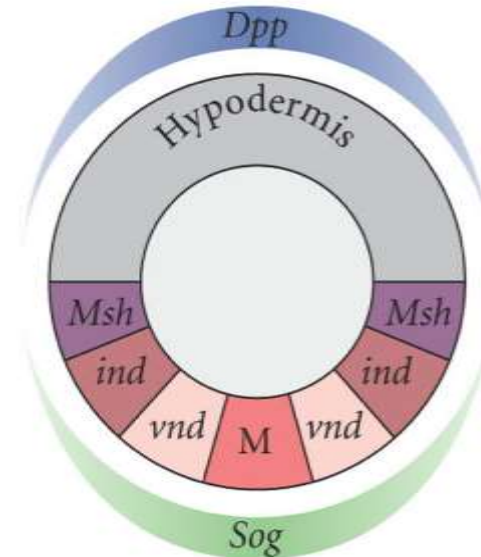
"Urbilateria"

=> Protostomia und Deuterostomia sind Schwestergruppen

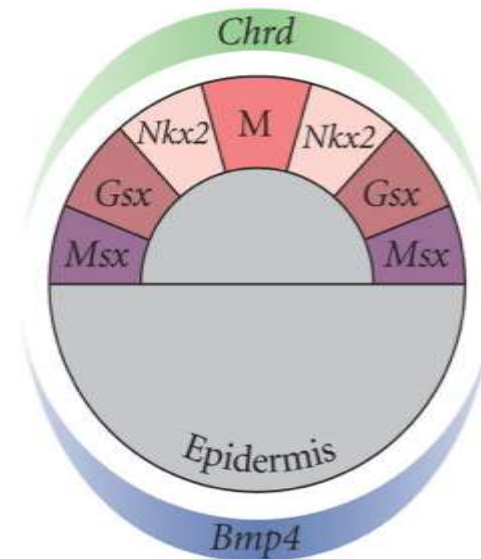
Protostomia - Deuterostomia



- Dorsoventral-Achse in Proto- und Deuterostomia: Signalwege homolog, aber Achse vertauscht!
- Bsp. **TGF- β** (**dpp/BMP-4**) vs. **Sog** (**Short of Gastrulation**)/**Chordin**
- => Reversion der D/V-Achse während der Evolution (bzw. Unterschiedliche Entwicklungsrichtungen)



Drosophila



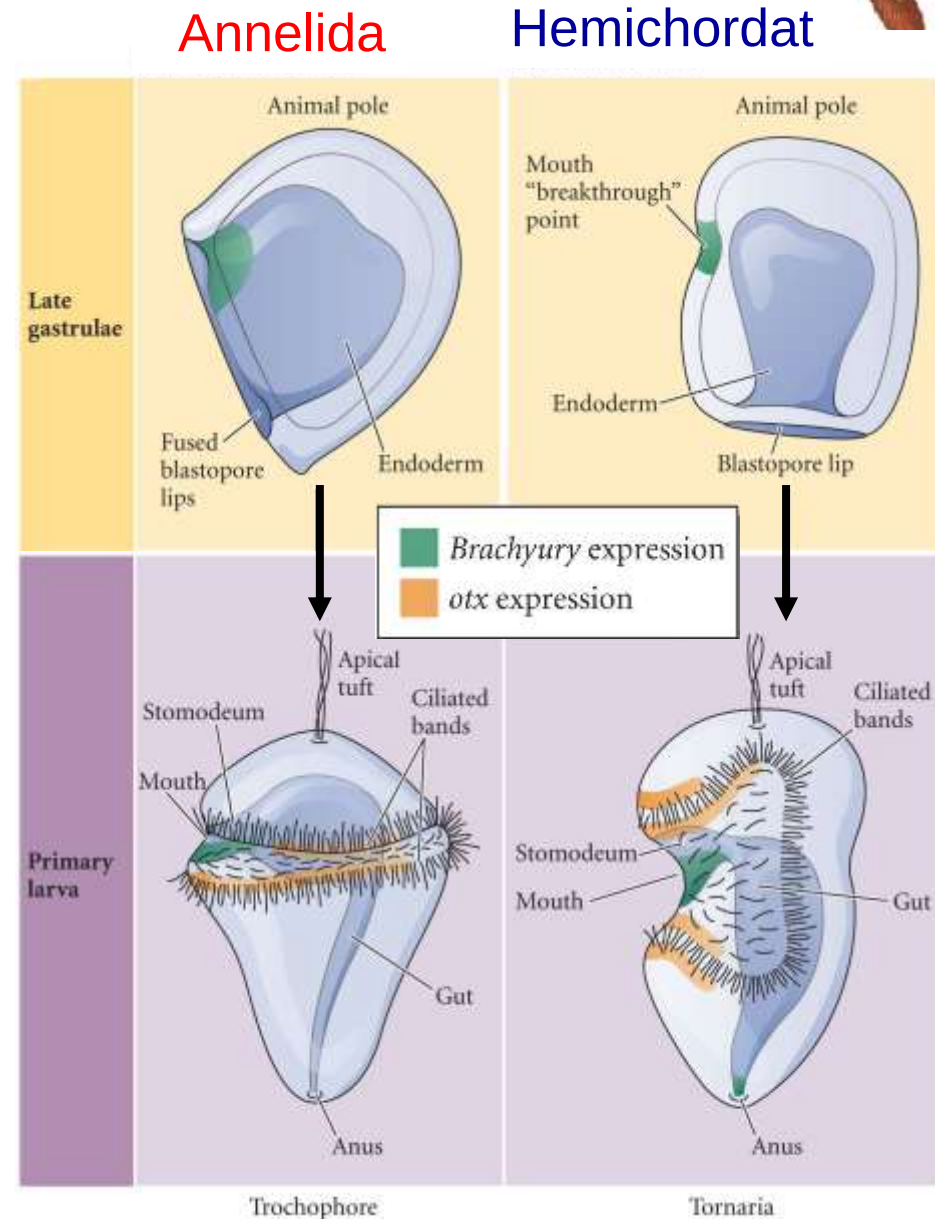
Mouse

Protostomia - Deuterostomia



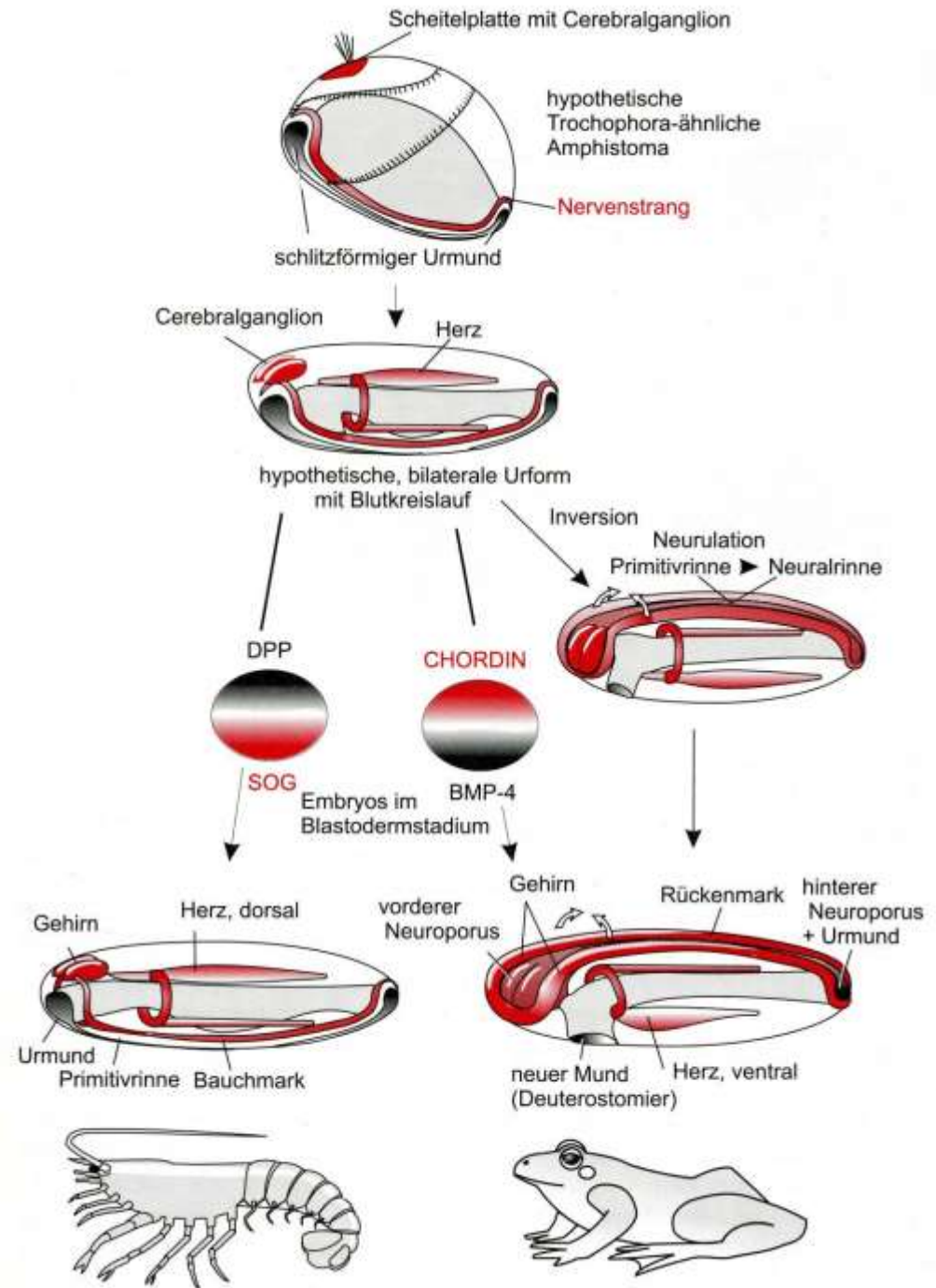
- Untersuchung der Expression von ***Brachyury*** in Larven eines Borstenwurms (Annelida, **Protostomia**) und eines Eichelwurms (Hemichordata, **Deuterostomia**)
- *Brachyury* wird jeweils in Mundregion exprimiert
- => Mund bereits in Urbilateria?!
- **Neu-** vs. **Urmundtiere?**
- beide mit Ciliensaum (Expression von *otx*)

Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.



Urbilateria

- Hypothetischer gemeinsame Vorfahre Protostomia-Deuterostomia (Urbilateria):
 - Reversion D/V-Achse in Deuterostomia
 - Mund + After aus Mundschlitz?
- "Paläontologie ohne Fossilien"



Makroevolution



- **Wie kann die Entwicklungsbiologie Makroevolution erklären?**

=> Änderung des Musters der Genexpression:

1. **Heterotopie**: Änderung im Ort
2. **Heterochronie**: Änderung im zeitlichen Ablauf
3. **Heterometrie**: Änderung in der Menge
4. **Herotypie**: Änderung im Typus

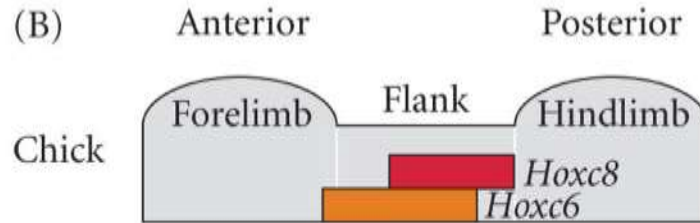
Wie verloren Schlange die Beine?



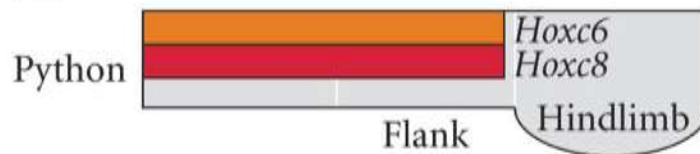
(A)



(B)



(C)



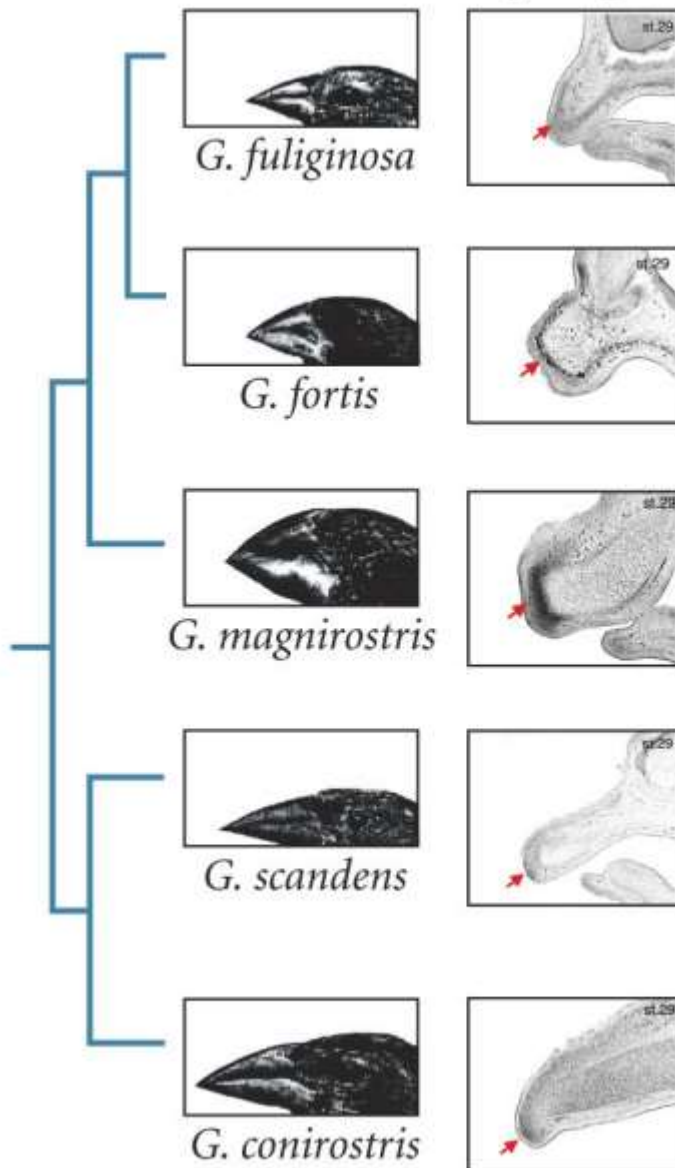
- Änderung im Expressionsmuster zweier **Hox**-Gene in den Somiten
- => Verlust der Vorderbeine (evolutiv zuerst)
- Hinterbeine: Anderer Mechanismus (*shh* "loss of function")

=> Heterotopie

Schnabelform der Darwinfinken



Bmp4 expression



- Unterschiede in **Menge** und **zeitlicher** Abfolge der **BMP-4**-Expression in sich entwickelnden Schnabel bestimmt Schnabelform der **Darwinfinken** (Galapagos)

=> **Heterometrie**

=> **Heterochronie**

Abdomen der Arthropoden



- Warum haben Insekten am Abdomen keine Beine, Crustaceen (Vorfahren) aber schon?

In der Insekten-Stammlinie verhindert eine Mutation im homöotischen Gen *Ubx*, dass sich an den Abdominalsegmenten Beine bilden.

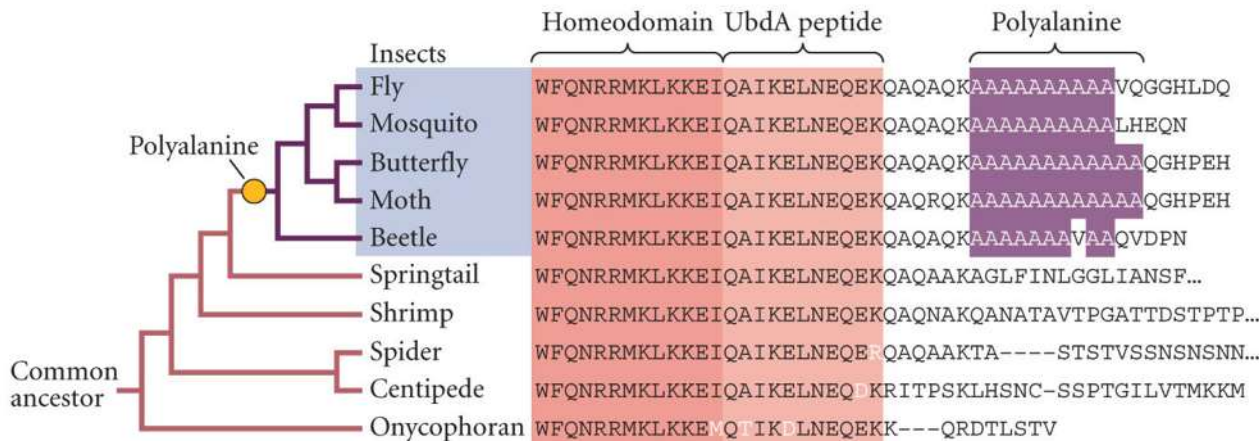
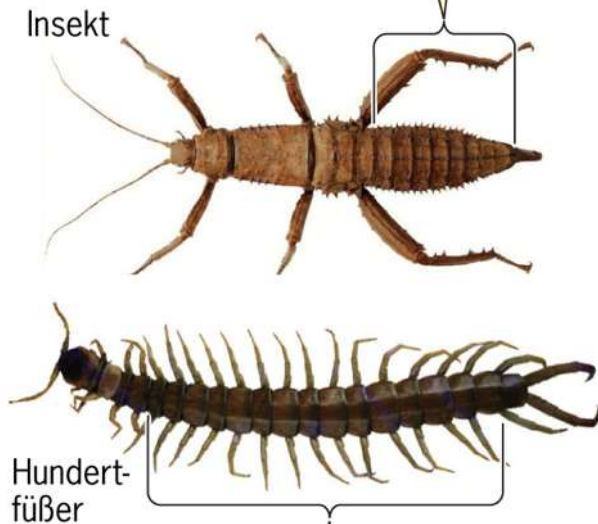


Abb. aus: Gilbert: Developmental Biology, 8th ed.



Bei vielen anderen Arthropoden tragen die Abdominalsegmente Beine.

- Distal-less verantwortlich für abdominale Beine
- In Insekten: *Ubx* (Hox-Gen) reprimiert *Distal-less*
- verantwortlich hierfür Polyalanin-Bereich am C-Terminus des Ubx-Proteins
- => nur in Insekten gefunden (s.o.)

=> **Heterotypie**

Zusammenfassung

- Medizinische Aspekte der Entwicklungsbiologie
- Wie beeinflusst die Umwelt die Entwicklung?
- EvoDevo: Evolution und Entwicklungsbiologie
- **Wolpert: Kapitel 14 etc.**
- **Müller & Hassel: Kapitel K6A1, K6A2, 7 etc.**
- **Gilbert: Kapitel 21, 22, 23**

